

Hras G12S遺伝子変異を導入したCostello症候群モデルマウスの作製とその病態解明

著者	大場 大樹
号	86
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3605号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00123286

氏 名	おおば だいじゅ 大場 大樹
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 29 年 3 月 24 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	<i>Hras</i> G12S 遺伝子変異を導入した Costello 症候群モデルマウスの作製とその病態解明
論文審査委員	主査 教授 青木 洋子 教授 千葉 奈津子 教授 呉 繁夫

論文内容要旨

Costello 症候群はカールした髪、特徴的な顔貌、肥大型心筋症や先天性心疾患などの心合併症、皮膚症状、精神発達遅滞、易発がん性を特徴とする、常染色体優性遺伝性疾患である。原因遺伝子として *HRAS* 遺伝子が唯一報告されており、臨床的に Costello 症候群と診断された患者の約 80% で *HRAS* 遺伝子に変異を認める。また、Costello 症候群で認められる *HRAS* 遺伝子変異の約 80% は *HRAS* G12S 変異である一方で、Costello 症候群の病態解明を目的としたモデルマウスによる研究は *Hras* G12V 変異を導入したノックインマウスが用いられてきた。*HRAS* G12V 変異を持つ Costello 症候群患者は今までに 6 例しか報告がなく、いずれの症例も 1 歳半以内に肥大型心筋症および重篤な合併症で死亡している。このような観点から、*Hras* G12S 変異を持つノックインマウスを用いた研究の必要性が唱えられているが、これまでにその報告はなかった。また、Costello 症候群患者は外表的な表現型に加え、体重増加不良や低血糖を認めることから代謝性疾患が疑われることがある。これまでの報告で Costello 症候群患者における安静時のエネルギー消費の増加が報告されているが、そのメカニズムは不明である。本研究では C57BL/6J を遺伝的背景に持ち、生殖細胞系列にヘテロ接合性の *Hras* G12S 変異を持つノックインマウス (*Hras*^{G12S/+} マウス) を作製し表現系解析を行った。また、*Hras*^{G12S/+} マウスにおける代謝性変化に焦点をあて、脂質代謝、糖代謝、グルタミン代謝、有機酸代謝における変化を解析した。

Hras^{G12S/+} マウスは Costello 症候群患者で認められるような特徴的な顔貌、咬合不正、肥大型心筋症様の心筋細胞肥大を認めた。また、これまでに報告された Costello 症候群モデルマウスである *Hras* G12V ノックインマウスにも類似しており、前述の表現型と併せてこれらの結果から *Hras*^{G12S/+} マウスは Costello 症候群の臨床的表現型を再現するモデルとして有用であると考えられた。その他に *Hras*^{G12S/+} マウスは腎臓の線維化や糸球体変化を伴う腎症を認めた。

Hras^{G12S/+} マウスにおける代謝性変化の解析を目的とした高脂肪食負荷を行った。高脂肪食負荷により *Hras*^{G12S/+} マウスは体重増加不良および死亡率の上昇を認めた。心臓と腎臓の表現型の変化を解析したところ、心臓の解析では心筋細胞肥大の増悪を、腎臓の解析では腎症の増悪を認めた。以上の結果から Costello 症候群患者では過度な脂肪の負荷が肥大型心筋症の増悪や早期死亡を引き起こす可能性が考えられた。

高脂肪食投与を行った *Hras*^{G12S/+} マウスにおける肝臓の解析では小滴性脂肪肝を認め、また絶

食時の肝臓の大滴性脂肪変性の増悪や長鎖アシルカルニチンの上昇、ミトコンドリア β 酸化関連遺伝子の低下を認めミトコンドリア β 酸化異常が示唆された。また、糖代謝、有機酸代謝、グルタミン代謝に関連する遺伝子の肝臓における遺伝子発現を解析したところ、摂食時には *G6pd* 遺伝子の上昇や *Pdha* 遺伝子の低下を認め、絶食時には *G6pd* 遺伝子や *Got1* 遺伝子の上昇および *Glud1* 遺伝子の低下を認めた。これらの遺伝子変化はマイクロアレイ解析やプロテオーム解析を用いたがん細胞での遺伝子変化に類似しており、TCA サイクルを介した好氣的な ATP 産生の低下につながっていると考えられる。

本研究では Costello 症候群モデルマウスとして *Hras*^{G12S/+} マウスを作製し、その表現型を解析した上で、高脂肪食投与を用いた病態の解析を行った。高脂肪食投与は *Hras*^{G12S/+} マウスにおける合併症の増悪を引き起こすことが確認され、Costello 症候群患者における栄養を考える上で重要な結果と考えられた。また、*Hras*^{G12S/+} マウスにおいて示唆される代謝性変化は Costello 症候群の病態解明、さらにはがん遺伝子の活性化を伴う細胞や個体の病態解明に役立つと考えられた。

審査結果の要旨

博士論文題目 Hras G12S 遺伝子変異を導入した Costello 症候群モデルマウスの作製とその病態解明.....

所属専攻・分野名 医科学専攻・遺伝医療学分野.....

学籍番号 B3MD 5020 氏名 大場 大樹.....

Costello 症候群はカールした髪、特徴的な顔貌、肥大型心筋症や先天性心疾患などの心合併症、皮膚症状、精神発達遅滞、易発がん性を特徴とする、常染色体優性遺伝性疾患である。当研究室では 2006 年に生殖細胞系列における *HRAS* 遺伝子変異が Costello 症候群の原因となることを報告した。これまで Costello 症候群のモデルマウスとして *HRAS* G12V 変異を導入したノックインマウスが用いられてきたが、最も頻度が高く典型的な症状を示す G12S 変異を持つノックインマウスの報告はない。本研究では生殖細胞系列にヘテロ接合性の *HRAS* G12S 変異を持つノックインマウス (*Hras*^{G12S/+} マウス) を作製したところ、頭顔部の変化、咬合不正、肥大型心筋症様の心筋細胞肥大を認めた。また、腎臓の線維化や糸球体変化を伴う腎症を認めた。これらの結果から *Hras*^{G12S/+} マウスは Costello 症候群の臨床的表現型を再現するモデルとして有用であると考えられた。

高脂肪食は心疾患や腎疾患の増悪を引き起こすことが知られているため、*Hras*^{G12S/+} マウスに対して高脂肪食負荷を行ったところ、心臓では心筋細胞肥大の増悪を、腎臓では腎症の増悪を認めた。また、高脂肪食投与により *Hras*^{G12S/+} マウスは生存率の低下を認めた。

Costello 症候群では体重増加不良・新生児低血糖など代謝性変化を示唆する症状を合併している。そこで高脂肪食投与を行った *Hras*^{G12S/+} マウスにおける代謝性変化を調べたところ、小滴性脂肪肝を認めた。絶食時には肝臓の大滴性脂肪変性の増悪、低ケトン血症、長鎖アシルカルニチンの上昇、ミトコンドリア β 酸化関連遺伝子の低下を認め、ミトコンドリア β 酸化異常が示唆された。また、糖代謝、有機酸代謝、グルタミン代謝に関連する遺伝子の肝臓における発現を解析したところ、摂食時には *G6pd* 遺伝子の上昇や *Pdha* 遺伝子の低下を認め、絶食時には *G6pd* 遺伝子や *Got1* 遺伝子の上昇および *Glud1* 遺伝子の低下を認めた。これらの遺伝子変化はがん細胞に認められる遺伝子変化に類似しており、TCA サイクルを介した好氣的な ATP 産生の低下につながっていると考えられた。

本研究では初めて *Hras*^{G12S/+} 変異を持つノックインマウスを作製しその病態を解析した。本マウスは Costello 症候群に類似した表現型を示し、今後の更なる病態解明・治療法開発に有用なツールとなる。マウスは高脂肪食により合併症の増悪を呈したが、Costello 症候群における栄養を考えるうえで重要な知見となった。高脂肪食負荷時に *Hras*^{G12S/+} マウスにおいて観察された代謝性変化はこれまでに報告の無い新しい知見であり、Costello 症候群の病態解明、さらにはがん遺伝子の活性化を伴う細胞や個体の病態解明に役立つと考えられる。よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。